第25卷 第3期　昆 虫 学 报　Vol. 25, No. 3
1982年8月　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　Aug. 1982

噻嗜派对淡色库蚊的不育作用

缪建吾　郑建中　韩罗珍
(中国科学院上海昆虫研究所)

摘要　本文报道了昆虫化学不育剂噻嗜派 (Thiotepa) 对淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens* Coq.) 的不育作用,以及对雄蚊交配竞争力和副腺的影响。试验证明用噻嗜派处理雄蛹,浓度范围在 0.5—0.8%,处理时间为 1—3 小时,其不育率可达 90% 以上。0.7% 浓度的噻嗜派处理雄蛹 1 小时,不育雄蚊的交配竞争力胜过正常雄蚊。经用遗传标记蚊虫测试,表明雄蚊副腺未发生损伤,与其交配的雌蚊仍保持单配性。

淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens* Coq.) 是斑氏丝虫病和流行性乙型脑炎的主要传染媒介。长期以来主要是用杀虫剂对它进行控制,取得良好效果。由于大量广泛地使用杀虫剂,继而产生的环境污染和抗药性,已给防治造成困难。自释放辐射绝育的羊皮锥蝇雄虫来控制该虫获得成功之后,人们对蚊虫遗传防治的可能性作了广泛的研究。Weidhaas (1962) 认为化学不育剂可用于防治蚊虫,是较有希望的途径之一,并在致乏库蚊 (*Culex fatigans*) (Patterson等, 1968; 1970) 和淡色按蚊 (*Anopheles albimanus*) (Lofgren, 1974; Dame, 1974) 的野外试验中先后获得成功。就目前已经试验的各种化学不育剂而言,噻嗜派 (Thiotepa) 是比较有效的一种。国外对噻嗜派作为蚊类的不育剂已有许多论文,野外试验亦获得成功。在我国这方面尚无报告。本研究的目的是评价该药用于防治淡色库蚊的可能性,为野外释放化学不育雄蚊提供依据。

材 料 和 方 法

淡色库蚊 SEN 品系。该蚊采自上海市郊区,在实验室内饲养了 20 多年的正常品系。

淡色库蚊红眼突变品系 (*r*)。系实验室发现的自然突变型。在幼虫、蛹和成虫阶段的一对复眼呈红色。红眼基因在性染色体上,是性连锁的隐性遗传 (黄品镂等, 1981)。此品系仅用于研究噻嗜派对雄蚊副腺的影响。

蛹的性别在解剖镜下区分。实验所用的不育蚊虫是将 24 小时龄的蛹经不同浓度的噻嗜派处理一定时间,放入纱布笼内让其羽化。观察药物对雄蚊竞争力和副腺的影响时,所用浓度为 0.7%, 处理 1 小时。凡经药物处理后的蛹,均用自来水冲洗 1 分钟,以去除蛹体上的残留药物,然后放入纱布笼内作各项观察。纱布笼的大小为 22 × 22 × 22 厘米。羽化后的成蚊喂以5%的葡萄糖水。成蚊羽化后的第 4 天,放入腹部去毛的小白鼠,供蚊吸血。吸血后放入产卵缸。产下的卵块单块饲养,直至幼虫发育到 2 龄,然后在解剖镜下检查,分别记录幼虫数、有胚未孵化卵数和无胚卵数。凡未受精的卵块为无效卵

本文于 1981 年 4 月收到。

块。

噻嗒派对生物具有诱变作用，在实验室处理蚊虫时应注意防护，沾有药物的器皿应浸泡于 10% 的醋酸内，以消除残留的药物。

实验所用的噻嗒派系上海第十三制药厂出品，有效含量为 99.8%。配制的药液存放于冰箱内。表内数据为两次试验的平均值。

结　　果

1. 不同浓度的噻嗒派诱发淡色库蚊的不育性　我们将 25 只雌蛹或雄蛹在 0.5%，0.6%，0.7% 和 0.8% 4 种浓度的噻嗒派水溶液中分别浸泡 1，2 和 3 小时，并和相对性别的非处理蛹放入笼内，经羽化、吸血和产卵，其结果见表 1 和表 2。

表 1　不同浓度的噻嗒派对淡色库蚊雄蚊的不育作用

浓度 (%)	处理时间 (小时)	卵粒数	幼虫数 (头)	未孵化卵粒数					不育率 (%)
				总数	有胚数	%	无胚数	%	
0	0	4,474	4,256	218	44	0.98	174	3.89	4.87
0.5	1	3,417	302	3,112	316	9.25	2,796	81.83	91.07
0.6	1	4,328	190	4,138	374	8.64	3,764	86.97	95.61
0.7	1	3,482	138	3,344	347	9.97	2,997	86.07	96.04
0.8	1	3,267	27	3,240	304	9.31	2,936	89.87	99.17
0	0	3,831	3,604	227	46	1.20	181	4.72	5.93
0.5	2	2,753	95	2,658	398	14.46	2,260	82.09	96.55
0.6	2	2,888	1	2,887	455	15.75	2,432	84.21	99.97
0.7	2	2,064	43	2,021	361	17.49	1,660	80.43	97.92
0.8	2	2,171	2	2,169	700	32.24	1,469	67.66	99.91
0	0	3,092	2,770	322	58	1.88	264	8.54	10.41
0.5	3	2,625	1	2,624	911	34.70	1,713	65.26	99.96
0.6	3	3,135	61	3,074	1,176	37.51	1,898	60.54	98.05
0.7	3	2,187	3	2,184	601	27.48	1,583	72.38	99.86
0.8	3	2,469	3	2,466	811	32.85	1,655	67.03	99.88

从表 1，2 中可以看出，处理后的雌雄蚊的不育率有很大差异。处理雄蛹各组的不育率均在 90% 以上，而处理雌蛹各组即使以较高浓度 (0.8%) 处理 3 小时其不育率仍未达到 90%。这种差异可能是雄蛹的生殖细胞对不育剂的敏感性较之雌蛹高。

2. 噻嗒派对雄蚊竞争力的影响　释放不育雄虫的防治效果优劣很大程度取决于能否有效地和当地正常雄虫竞争配偶。因此，了解经不育剂处理后的雄蚊竞争力的状况是很重要的。我们将雄蛹浸于 0.7% 的噻嗒派水溶液中 1 小时，然后按不同比例（处理雄蚊：非处理雄蚊：非处理雌蚊）放入同一笼内作竞争力观察。结果见表 3。

从表 3 可知，在各交配比例中，处理后的雄蚊竞争力并无下降。观察的不育率超过预期的不育率，其竞争力指数均在 1 以上。这说明处理后的雄蚊竞争力不但没有下降反而胜过非处理雄蚊。

表 2 不同浓度的噻嗜派对淡色库蚊雌蚊的不育作用

浓度 (%)	处理时间 (小时)	卵粒数	幼虫数 (头)	未孵化卵粒数					不育率 (%)
				总数	有胚数	%	无胚数	%	
0	0	2,360	2,258	102	15	0.64	87	3.68	4.32
0.5	1	2,081	1,001	1,080	60	2.88	1,020	49.01	51.89
0.6	1	2,838	1,440	1,398	56	1.97	1,342	47.28	49.25
0.7	1	2,192	987	1,205	44	2.00	1,161	52.96	54.96
0.8	1	2,720	853	1,867	119	4.37	1,748	64.26	68.63
0	0	3,090	2,982	108	15	0.48	93	3.00	3.48
0.5	2	3,427	1,938	1,489	90	2.62	1,399	40.82	43.44
0.6	2	2,573	1,246	1,327	70	2.72	1,257	48.85	51.57
0.7	2	3,387	1,310	2,077	65	1.91	2,012	59.40	61.31
0.8	2	3,024	795	2,229	78	2.58	2,151	71.13	73.71
0	0	2,903	2,806	97	17	0.59	80	2.76	3.34
0.5	3	2,715	928	1,787	43	1.58	1,744	64.23	65.82
0.6	3	2,358	616	1,742	64	2.71	1,678	71.16	73.87
0.7	3	2,185	528	1,657	50	2.29	1,607	73.55	75.84
0.8	3	1,521	231	1,290	35	2.30	1,255	82.51	84.81

表 3 淡色库蚊雄蛹经 0.7% 噻嗜派处理 1 小时后其成蚊的交配竞争力 (1=25 只蚊虫)

交配比例 处理♂♂: 非处理♂♂: 非处理♀♀	预期不育率 (%)	观察不育率 (%)	竞争力指数
0 : 1 : 1		7.0	
1 : 0 : 1		94.0	
1 : 1 : 1	47.0	56.5	1.20
2 : 1 : 1	62.6	68.9	1.10
3 : 1 : 1	70.5	81.2	1.15
4 : 1 : 1	75.2	93.3	1.24
5 : 1 : 1	78.5	88.4	1.13

3. 噻嗜派对雄蚊副腺的影响 蚊虫是单配性的昆虫。雌蚊通常一生只交配一次。雌蚊一经交配后就不再和别的雄蚊交配，这种现象是受雄蚊副腺分泌的配偶素 (matrone) 控制 (Craig, 1967; Fuchs, 1968; 1969)。 处理后，雄蚊的副腺若受到损伤，当正常雌蚊和处理的以及非处理的雄蚊同时存在时，就会出现复交配现象，卵的孵化率就会上升，从而影响防治效果。因此，我们希望所选择的处理浓度 (0.7%) 不至于损伤配偶素的功能。本观察以下列交配组进行试验。

第 1 组：正常雌蚊×正常雄蚊。此组的卵块孵化率应为正常；

第 2 组：正常雌蚊×处理雄蚊。此组卵块的孵化率应很低。

第 3 组：第 1 组产卵后，将其正常雄蚊取出，放入不育剂处理过的红眼雄蚊。如该蚊是单配性的话，那末已交配过的正常的雌蚊就不会和处理红眼雄蚊再交配， 它们的 F_1 代自交(表 4 中的第 6 交配组)所获得的后代幼虫的复眼的颜色均为野生型性状，即无红眼后代出现。

第 4 组：第 2 组产卵后，将处理雄蚊取出，放入正常的红眼雄蚊。若第 2 组的处理雄蚊因药物损伤了副腺的功能，该组原有的雌蚊就会与正常的雄蚊发生复交配，那末不育率就会明显下降。而且，按孟德尔遗传定律，携有隐性红眼基因（r）的 F_1 代自交（表 4 中的第 7 交配组）所获得的幼虫中会有红眼表现型出现。反之，不育率和第 2 组相近，F_1 代自交幼虫无红眼出现，说明雄蚊副腺功能不受影响。上述各组试验所用的雌雄蚊数各 10 只，所产的卵块单块饲养，幼虫养至 2 龄，在解剖镜下检查眼的颜色。结果见表 4。

从表 4 看出，全部试验结果和预期的相一致。第 4 组子代的不育率虽有下降，但 F_1 代自交所得到的幼虫个体中并未出现表现型为红眼的个体。这证明雄蛹经噻嗜派处理后的雄蚊副腺功能并未丧失。

表 4　噻嗜派对淡色库蚊雄虫副腺的影响

交配组		卵粒数	幼虫数	未孵化卵粒数	不育率 (%)	幼虫的表现型	
						野生型	红眼型
第 1 组	正常雌蚊×正常雄蚊	894	862	32	3.58	862	
第 2 组	正常雌蚊×处理雄蚊	939	42	897	95.53	42	
第 3 组	第 1 组产卵后的雌蚊×处理红眼雄蚊	693	671	22	3.17	671	0
第 4 组	第 2 组产卵后的雌蚊×正常红眼雄蚊	759	124	635	83.66	124	0
第 5 组（对照组）	正常野生型雌蚊×正常红眼雄蚊	1,398	1,346	52	3.72	1,346	0
第 6 组	第 3 组产生的 F_1 代自交		9,981			9,981	0
第 7 组	第 4 组产生的 F_1 代自交		1,701			1,701	0
第 8 组	第 5 组产生的 F_1 代自交		8,444			6,636	2,081

讨　　论

噻嗜派属多功能团的烷化剂类的化学不育剂。这类药物处理蚊虫会引起 DNA 碱基的转换和颠换；基因点突变和染色体断裂（Fahmy 和 Fahmy，1964），致使生殖细胞产生无活力的或染色体有严重缺陷的配子，这反映在卵不受精，或虽受精而因显性致死，胚胎在发育后期便死亡，以致不能孵化出幼虫（Lachance，1967）。据此，我们检查了不育雄蚊和正常雌蚊以及处理雌蚊和正常雄蚊交配后的卵粒数，包括有胚胎不孵化数和无胚胎卵粒数，发现前一交配组的有胚不孵化的卵粒占总卵数的 8.64—37.51%，无胚卵粒数却占 60.54—89.86%（表 1)；后一交配组分别为 1.91—4.37% 和 40.82—82.51%。因此，可以认为造成不育的主要原因是精子或卵子发生不正常。

蚊虫的单配性是受雄蚊副腺分泌的配偶素控制，这已被 Craig（1967）和 Fuchs 等（1968；1969）证实。若配偶素因药物处理后而功能丧失，雌蚊便由单配性变为多配性。Dame（1964）用阿服力（Apholate）处理埃及伊蚊幼虫获得不育的雄蚊。当正常雌蚊和处理雄蚊交配后，再和非处理雄蚊交配，发现其不育率明显下降，他认为发生了复交配，但无试验直接证明。Kitzmiller 和 Laven（1958）曾用遗传标记的蚊虫测试库蚊（*Culex*）

有无复交配现象。我们认为用此法测试配偶素功能丧失与否是方便而又准确的。Powell 和 Craig(1970) 用上述方法作杂交试验证明经不育剂阿服力处理埃及伊蚊幼虫之后，雌蚊出现复交配，而且受处理的雄蚊副腺体积比正常的小一半。我们也用遗传标记蚊虫测试噻嗜派处理后的雄蚊，结果表明未出现复交配现象，与上述研究者的结果迥然不同。这很可能与所用的药物和处理的虫态不同有关。

烷化剂类的化学不育剂是一种诱变剂，对生物有着潜在的危险性。因此，释放化学不育的雄虫，要求虫体上的不育剂残留物应降解到一定水平才能释放。Seawright 等 (1971) 在研究致乏库蚊的蛹经 1% 浓度的噻嗜派和嗜派溶液处理 4 小时后的滞留吸收作用时，发现羽化后 24 小时，噻嗜派在成蚊体上的量为 0.25ng。LaBrecque 等 (1972) 试验证明以 0.6% 浓度的噻嗜派处理致乏库蚊雄蛹 3 小时，经清水冲洗两次，24 小时龄的成蚊通过气谱分析，蚊体上没有检出噻嗜派及其代谢物嗜派的残留物。说明羽化 24 小时后释放是安全的。最近，Sharma (1976) 报道了噻嗜派处理蚊虫的程序，这样蚊虫既能达到不育，又能将蚊体上的不育剂残留物完全消除。所以，我们认为掌握消除蚊体上的不育剂残留物的方法，处理和释放化学不育雄蚊是安全可行的。

参 考 文 献

黄品鑫等 1981 淡色库蚊红眼 (r) 突变的遗传。昆虫学报 **24**(2): 142—6。

Craig, G. B. 1967 Mosquitoes: Female monogamy induced by male accessory gland substance. *Science* **156**(3781): 1499—501.

Dame, D. A. et al. 1964 Chemosterilization of *Aedes aegypti* (L.) by larval treatments. *Mosq. News* **24**(1): 1—6.

Dame, D. A. et al. 1974 Release of chemosterilized males for the control of *Anopheles albimanus* in El Salvador. II Method of rearing, sterilizatione and distribution, Amer. *J. Trop. Med. Hyg.* **23**(2): 282—7.

Fahmy, O. G. & M. J. Fahmy 1964 A symposium on chemosterilants in pest and vector control. II The chemistry and genetics of the alkylating chemosterilants. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **58**(4): 318—26.

Fuchs, M. S. et al. 1968 The biochemical basis of female monogamy in mosquitoes —I. Extraction of the active principle from *Aedes aegypti*. *Life Science* **7**(11): 835—9.

Fuchs, M. S. et al. 1969 The protein nature of the substance inducing female monogamy in *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* **15**: 701—9.

Kitzmiller, J. B. & O. H. Laven. 1958 Tests for multiple fertilization in *Culex* mosquitoes by the use of genetic marker. *Amer. J. Hyg.* **67**: 207—13.

LaBrecque, G. C. et al. 1972 Persistence of thiotepa and tepa in pupae and adult of *Culex pipiens fatigans* Wiedemann. *Bull WHO.* **47**(5): 675—6.

Lachance, L. E. 1967 The induction of dominant lethal mutations in insects by ionizing radiation and chemicals as related to the sterile-male technique of insect control. In. J. W. Wright R. Pal. Ed. ''Genetics of Insect Vectors of Disease'' pp. 617—50.

Lofgren, C. S. et al. 1974 Release of chemosterilized males for the control of *Anopheles albimauns* in El Salvador. III Field methods and population control. Amer. *J. Trop. Med. Hyg.* **23**(2): 288—97.

Patterson, R. S. et al. 1968 Sterile males for mosquito control: a field cage study with *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Mosq. News* **28**(4): 540—4.

Patterson, R. S. et al. 1970 Suppression and elimination of an island population of *Culex pipiens quinquefasciatus* with sterile males. *Science.* **168**: 1368—70.

Powell, J. R. & G. B. Craig 1970 Inhibition of male accessory glands of *Aedes aegypti* by larval treatment with apholate. *J. Econ. Ent.* **63**(3): 745—8.

Seawright, J. A. et al. 1971 Tepa and thiotepa: Uptake, persistence and sterility induced in pupae and adults of *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J. Econ. Ent.* **64**(2): 452—5.

Sharma, V. P. 1976 Elimination of aziridine residues from chemosterilized mosquitoes. *Nature* **261** (5556): 135.
Weidhaas, D. E. 1962 Chemical sterilization of mosquitoes. *Nature* (London) **195**(4843): 786—7.

THE CHEMOSTERILE EFFECT OF THIOTEPA ON *CULEX PIPIENS PALLENS* COQ.

MIAO JIAN-WU ZHENG JIAN-ZHONG & HAN LUO-ZHEN
(Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica)

This paper deals with the sterile effect of the chemosterilant Thiotepa on the mosquito *Culex pipiens pallens* Coq. and its influence on the competitiveness and the accessory gland fluid of the sterile males.

When the male pupae were exposed to 0.5, 0.6, 0.7 and 0.8% Thiotepa solutions for 1, 2, and 3 hours respectively, the sterility rate of the ensuring adults was over 90%.

When the female pupae were treated under the above conditions, the sterility rate was 43.4—84.8%.

The males which emerged from the pupae treated in 0.7% Thiotepa solution for 1 hour were more competitive than the normal ones. The result determined by using genetic marker indicated that Thiotepa did not appear to damage the accessory gland and the females remained monogamous.